全自动间接免疫荧光法与全自动固相法检测抗核抗体调整间接比较的Meta分析

张敏杰，杨焕丽*

咸阳市中心医院医学检验科 咸阳 712000

【摘要】目的 采用Meta分析和以手工间接免疫荧光法（manual-IIF）为共同参考标准的调整间接比较方法对全自动间接免疫荧光法（Automated-IIF）与全自动固相法（solid-phase assays）检测抗核抗体（ANA）性能进行分析。**方法** 计算机检索PubMed、EMbase、Web of Science、The Cochrane Library、中国生物医学文献检索数据库（CBM）、中国期刊全文数据库（CNKI）、万方科技期刊全文数据库中发表的与全自动IIF和固相法检测ANA相关的诊断性研究，检索时限均从建库至2022年3月。由2名研究者根据事先制定的纳入、排除标准独立进行文献筛选并提取基本资料，依据诊断准确性研究的质量评估（QUADAS-2）工具评价文献质量。采用Meta-Disc 1.4软件和Stata 12.0软件进行Meta分析，计算合并敏感性、合并特异性、合并阳性似然比、合并阴性似然比、合并诊断优势比。采用RevMan 5.3软件绘制汇总受试者工作特征曲线（SROC）。通过R软件实现全自动IIF与固相法检测ANA间接比较的相对诊断比值比（RDOR）结果，采用调整间接比较森林图显示两种检测方法的RDOR值及其95%可信区间（*CI*），采用Deek's漏斗图非对称检验评估是否存在发表偏倚。**结果** 最终纳入23篇文献，共计20 608例病例 。异质性检验结果提示存在非阈值效应引起的明显异质性，采用随机效应模型进行Meta分析。全自动IIF检测ANA的Meta分析结果：合并敏感性为0.86（95% *CI* 0.85-0.87）、合并特异性为0.90（95% *CI* 0.90-0.91）、合并阳性似然比为10.47（95% *CI* 5.63-19.47）、合并阴性似然比为0.06（95% *CI* 0.03-0.12）、合并诊断优势比（DOR）为172.36（95% *CI* 66.47-446.94）、SROC曲线下面积（AUC）为：0.974；固相法检测ANA的Meta分析结果：合并敏感性为0.43（95% *CI* 0.42-0.45）、合并特异性为0.94（95% *CI* 0.93-0.94）、合并阳性似然比为6.48（95% *CI* 4.19-10.01）、合并阴性似然比为0.45（95% *CI* 0.38-0.54）、合并DOR为14.86（95% *CI* 8.88-24.88）、AUC为：0.863。间接比较结果显示全自动IIF检测ANA准确性明显高于固相法。**结论** 在临床实验室对ANA检测的需求增加时，全自动IIF可以被推荐作为ANA筛查的替代方法。

【关键词】调整间接比较；间接免疫荧光法；Meta分析；抗核抗体；固相法

An adjusted indirect comparison meta-analysis of automated indirect mmmunofluorescence versus fully automated solid phase immunoassays for ANA detection

Zhang Minjie, Yang Huanli*

Xianyang Central Hospital, Xianyang 712000, China

Corresponding author: Yang Huanli, E-mail: 158411701@qq.com

【Abstract】Objective The primary aim of this study was to conduct a meta-analysis to compare the diagnostic test accuracy of automated indirect immunofluorescence (automated-IIF) and fully automated solid phase immunoassays (solid-phase assays), compared with gold standard conventional manual indirect immunofluorescence (manual-IIF) for antinuclear antibody (ANA) detection. **Methods** Diagnostic tests regarding different automated solid-phase assays and automated-IIF for ANA detection were retrieved from the Cochrane Library, PubMed, Embase, Web of Science, Chinese Biological Medicine Database (CBM), China National Knowledge Infrastructure (CNKI), and WANFANG electronic databases from their inception to March 2022. Two researchers independently screened the literature and extracted the basic data according to the inclusion and exclusion criteria formulated in advance, quality

assessment of the studies was undertaken using a second version of the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2) tool. The investigated diagnostic indices including pooled sensitivity, pooled specificity, pooled positive likelihood ratio (PLR), pooled negative likelihood ratio (NLR), pooled diagnostic odds ratio (DOR), area under the summary receiver operating characteristic (AUC) of automated-IIF and solid-phase assays, respectively. The summary receiver operating characteristic (SROC) curve was drawn using RevMan 5.3 software. Relative diagnostic odds ratio (RDOR) was calculated to indirectly compare the diagnostic test accuracy of automated-IIF and solid-phase assays. To visualize results, we will provide forest plots showing the RDOR with 95% confidence intervals (*CI*) of the two methods by R software. Deeks' funnel was used to investigate the publication bias. **Results** A total of 23 studies involving 20 608 subjects were included in the analysis. The heterogeneity test showed that there were obvious heterogeneity caused by non-threshold effect, the random effects model was used for meta-analysis. The pooled sensitivity, pooled specificity, pooled PLR, pooled NLR, pooled DOR with corresponding 95% confidence intervals (95% *CI*s) and the area under the summary receiver operating characteristic (SROC)(AUC) were 0.86 (95% *CI*: 0.85-0.87) , 0.90(95% *CI* 0.90-0.91), 10.47(95% *CI* 5.63-19.47), 0.06(95% *CI* 0.03-0.12), 172.36(95% *CI* 66.47-446.94) and 0.974 for automated-IIF respectively, and as for solid-phase assays those were 0.43(95% *CI* 0.42-0.45), 0.94(95% *CI* 0.93-0.94), 6.48(95% *CI* 4.19-10.01), 0.45(95% *CI* 0.38-0.54), 14.86(95% *CI* 8.88-24.88) and 0.863. The results of adjusted indirect comparison indicated that automated-IIF had statistically significant higher accuracy for the detection of ANA. **Conclusions** This meta-analysis and adjusted indirect comparison suggested that automated-IIF should be recommended as an alternative assays for ANA screening under the condition that if an increased demand for ANA testing in clinical laboratories.

【Key words】Adjusted indirect comparison; Indirect immunofluorescence; Meta-analysis; Antinuclear antibody; Solid-phase immunoassay

抗核抗体 （antinuclear antibody, ANA）检测被广泛应用于系统性自身免疫性风湿性疾病（systemic autoimmune rheumatic diseases, SARDs）的筛查[1]。以 HEp-2 细胞为抗原基质的间接免疫荧光法（indirect immunofluorescence，IIF）是 ANA 检测的首选方法，已被纳入多种自身免疫性疾病（autoimmune disease，AID）分类标准中，在 ANA 相关性风湿性疾病（ANA associated rheumatic diseases, AARD）的诊疗及预后评估中起重要作用。手工间接免疫荧光法（manual indirect immunofluorescence, manual-IIF）是目前推荐的检测 ANA 的金标准方法[2-4]。然而，该方法在临床实验室检测过程中存在许多问题，如：（1）由于试验过程耗时较长且具有连贯性造成检测人员工作强度增大，尤其在临床检测需求急剧增大的情况下；（2）荧光载片结果判读通过视觉进行观察，易受检测人员主观判断影响。全自动荧光载片处理系统的出现克服手工检测过程存在的问题，该系统可通过自动装置完成从标本稀释、加样到洗涤的全过程，实现了样本预处理与试验过程的自动化和标准化[3]。近年来，全自动数字读取系统不断发展，可通过使用相应软件系统完成对 ANA 荧光载片结果的摄取、保存及判读。随着全自动荧光载片处理系统和自动判读系统的迅速发展，全自动间接免疫荧光技术（automated indirect immunofluorescence, automated-IIF）应运而生。目前，全自动 IIF 已经广泛应用于多个实验室[5]。但该方法仍存在一些缺陷，而其他 ANA 检测技术也在不断涌现和发展。如全自动固相法（solid-phase assays）不断发展用于筛选特异性的自身抗体，且能够克服前面提到的手工 IIF 检测过程中存在的一些限制[6-7]，可作为 IIF 的替代方法。全自动固相法中应用较广的是荧光酶免疫分析技术（fluorescence enzyme immunoassay, FEIA），这是一种基于酶联免疫法（enzyme-linked immunosorbent

assay, EliA）将多种人类重组抗原包被于固相载体的分析方法[8]，商用的自动化FEIA检测系统如Phadia （Thermo Fisher）可对ANA进行定性分析[9]。另一种全自动固相法为化学发光免疫分析技术（chemiluminescent immunoassay, CLIA），商用的CLIA检测系统如LIAISON （DiaSorin）可将多种纯化的重组抗原及HEp-2细胞的核提取物包被于磁颗粒，用于定性检测针对临床相关自身抗原的自身抗体[6]；BIO-FLASH（INOVA） CLIA检测系统，主要用于定性检测可提性取核抗原（extractable nuclear antigens, ENAs）[10]。总而言之，与传统的手工-IIF[11-12]相比，固相法因其具有抗原种类多样、明确的特点在高通量检测实验室中得到了广泛的应用，并且在ANA筛查过程中更加方面、快捷和易于操作。本研究以手工IIF为共同参考标准通过调整间接比较的方法评估全自动IIF和固相法这两种广泛使用的ANA筛查方法的准确性。

1 资料与方法

1.1 文献检索策略　计算机检索PubMed、EMbase、Web of Science、The Cochrane Library、中国生物医学文献检索数据库（CBM）、中国期刊全文数据库（CNKI）、万方科技期刊全文数据库，检索时限从建库到2022年3月，语种为中、英文。 中文检索词为：“抗核抗体”、“间接免疫荧光法”、“全自动间接免疫荧光分析系统”、“荧光酶免疫分析技术”、“化学发光免疫分析”；英文检索词为：“Antinuclear antibodies”、“immunofluorescence”、“Automated indirect immunofluorescence”、“fluorescence enzyme immunoassay”、“chemiluminescent immunoassay”。

1.2　纳入和排除标准　纳入标准：（1）以传统手工IIF为金标准，对ANA检测准确性进行评估的研究。（2）检测方法：所有样本同时采用手工IIF和全自动IIF或者全自动固相法进行检测；手工IIF整个实验操作过程由手工完成，结果判读通过荧光显微镜视觉判读；全自动IIF整个实验过程包括样本稀释及结果判读均由仪器装置自动完成；全自动固相法包括：FEIA和CLIA。（4）结局指标：合并敏感性、合并特异性、合并阳性似然比、合并阴性似然比、合并诊断优势比、绘制受试者工作特征（summary receiver operating characteristic，SROC）曲线并计算曲线下面积（area under curve，AUC）；全自动IIF与全自动固相法 2种检测方法调整间接比较的相对诊断比值比（relative diagnostic odds ratio, RDOR）结果。排除标准：（1）检测样本非患者外周血，如：质控血清。（2）不以传统手工IIF为金标准，对全自动IIF、全自动固相法、ELISA、全自动多重免疫检测（multiplex immunoassay, MIA）、线性免疫法（line immunoassays, LIA）等各种检测方法准确性进行比较的研究。（3）多中心统计分析研究，未指明IIF试剂生产商或者仪器，不能明确为手工IIF还是全自动IIF的研究。（4）数据资料有误无法获取四格表数据或者数据不完整的研究。（5）同一作者或者研究单位对同一人群进行的重复研究或重复发表、重复收录的研究。（6）非中、英文的研究。

1.3 文献筛选及资料提取　由2位作者通过逐篇阅读文献进行独立筛选并提取资料，双方同时纳入的文献采用QUADAS-2（Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2）工具进行偏倚风险评价。存在分歧且难以确定是否符合纳入标准的文献由第三位作者和第四位作者协商决定是否纳入。提取资料主要包括第一作者；发表年份；病例总数；纳入病例的类型；手工IIF筛选滴度；全自动IIF筛选滴度或者Cut-off值；全自动IIF所用仪器；固相法Cut-off值；固相法所用方法及仪器。四格表数据真阳性（true positivity，TP）、假阳性（false positivity，FP）、假阴性（false negativity，FN）、真阴性（true negativity，TN）。

1.4　采用QUADAS-2工具进行偏倚风险评价，QUADAS-2工具共由4个部分组成（1）病例的选择；（2）待评价诊断试验；（3）金标准；（4）病例流程和进展情况。由2位作者独立使用QUADAS-2工具对所有研究进行评价，结果所得一致性较好。

1.5　统计学方法　采用 Meta-Disc 1.4 软件进行 Meta 分析，分别对全自动 IIF、固相法这 2 种诊断试验各研究间的阈值效应进行分析，通过计算敏感性的对数与（1-特异性）对数的 Spearman 相关系数检验，$P<0.05$ 提示存在阈值效应。运用 Meta-Disc 1.4 软件分别对全自动 IIF、固相法 2 种诊断试验内部各研究间异质性进行分析，通过计算诊断优势比（diagnostic odds ratio，DOR）的 Cochran-Q 值，I^2 值检验异质性。$P>0.05$，$I^2<50\%$ 则无统计学异质性，采用固定效应模型合并效应量。当 $P<0.05$，$I^2>50\%$ 为存在统计学异质性，采用随机效应模型合并效应量包括：合并敏感性、合并特异性、合并阳性似然比、合并阴性似然比、合并 DOR。采用 RevMan 5.3 实现在同一个图形中呈现 2 个诊断试验的 SROC 曲线，以 Meta-Disc 1.4 软件计算 AUC。运用 R 软件的“netmeta”安装包实现全自动 IIF、固相法进行间接比较的 RDOR 结果。当 RDOR 结果的置信区间包含 1 时，提示 2 种诊断试验之间的差异无统计学意义。若 A vs B，当 RDOR＞1 且置信区间不包含 1，则 A 的诊断价值较 B 大；当 RDOR＜1 且置信区间不包含 1，则 A 的诊断价值较 B 小，提示 2 种诊断试验之间的差异具有统计学意义。采用亚组分析探索异质性来源，采用 Stata 12.0 软件绘制 Deek's 漏斗图非对称检验评估是否存在发表偏倚，$P<0.05$ 为差异有统计学意义，表明存在发表偏倚。

2　结　果

2.1 文献检索结果　初检获得文献 16 652 篇，排除不同数据库重复收录的文献后为 10 327 篇，阅读全文依据纳入标准进行筛选并排除病例报道、临床症状分析、综述及无法获取全文的会议内容的摘要后获得文献 448 篇，严格按照排除标准进行筛选最终纳入文献 23 篇。有关全自动 IIF 的原始文献 16 篇，有关固相法的原始文献 7 篇。共计纳入病例为 20 608 例。纳入研究的基本信息见表 1。

2.2 质量评价和偏倚风险评价结果　采用 QUADAS-2 工具进行偏倚风险评价及适用性判断，偏倚风险评价标准：如果≥ 2 个信号问题的答案为“是”，表示存在“低偏倚风险”。如果≥ 2 个信号问题的答案为“否”，则表示存在“高偏倚风险”。其他情况则判断为“不清楚”。病例选择部分适用性评价标准：若原始研究中纳入诊断明确的病例则为“低不适用性考虑”；若病例诊断不明，如为“疑似病例”则为“高不适用性考虑”；原始研究中病例诊断不详则为“不清楚”。待评价诊断试验适用性评价标准：所用仪器、检测方法、试剂盒来源明确则为“低不适用性考虑”；否则则为“高不适用性考虑”。金标准适用性评价标准：若原始研究中存在经过手工 IIF 检测为假阳性或者假阴性的病例则为“高不适用性考虑”；若原始研究未提及则为“低不适用性考虑”。依据上述标准，在病例选择过程中有 1 篇文献存在“高偏倚风险”[31]；另外 2 篇文献中纳入了“疑似”病例[13,22]，评价为“高不适用性考虑”。待评价诊断试验评价过程中 2 篇文献存在“高偏倚风险”[14,23]；所有研究所用仪器、检测方法、试剂盒来源均明确，适用性评价均为“低不适用性考虑”。金标准评价过程中有 5 篇文献存在临床诊断明确的病例与手工 IIF 检测结果不一致的情况，因此适用性评价为“高不适用性考虑”。结果见图 1。



注：Patient Selection 为病例的选择；Index Test 为待评价诊断试验；Reference Standard 为金标准；Flow And Timing 为病例流程和诊断试验与金标准之间的时间间隔；Risk of Bias 为偏倚风险评估；Applicability Concerns 为适用性考虑。

图 1 纳入研究的质量评价

Fig. 1 Quality evaluation of the included studies

2.3 Meta 分析结果

（1） 全自动 IIF 与固相法检测 ANA 准确性评估：纳入全自动 IIF 检测 ANA 文献 16 篇，纳入固相法检测 ANA 文献 7 篇。Spearman 相关系数分别为 0.010（*P*=0.963）；0.527（*P*=0.117）提示定量评价无阈值效应，采用随机效应模型进行 Meta 分析。2 种诊断试验与金标准比较合并分析结果如下。异质性检验提示存在非阈值效应引起的明显异质性，采用随机效应模型对全自动 IIF 检测 ANA 的研究进行 Meta 分析，结果合并敏感性为 0.86[95%可信区间（*CI*）（0.85-0.87）]、合并特异性为 0.90（95% *CI* 0.90-0.91）、合并阳性似然比为 10.47（95% *CI* 5.63-19.47）、合并阴性似然比为 0.06（95% *CI* 0.03-0.12）、合并诊断优势比（DOR）为 172.36（95% *CI* 66.47-446.94）、SROC 曲线下面积（AUC）为：0.974；全自动固相法检测 ANA 的 Meta 分析结果：合并敏感性为 0.43（95% *CI* 0.42-0.45）、合并特异性为 0.94（95% *CI* 0.93-0.94）、合并阳性似然比为 6.48（95% *CI* 4.19-10.01）、合并阴性似然比为 0.45（95% *CI* 0.38-0.54）、合并 DOR 为 14.86（95% *CI* 8.88-24.88）、AUC 为：0.863。全自动 IIF 的 SROC 曲线下面积大于固相法，提示全自动

IIF 的准确性优于固相法，见图 2。

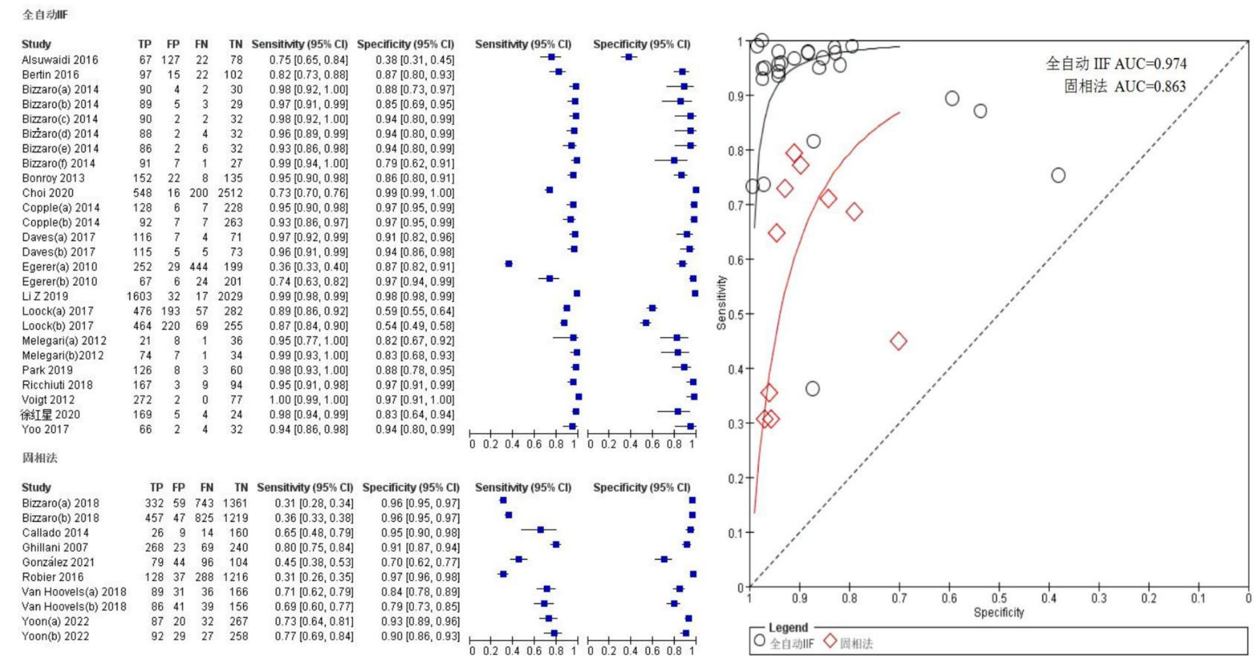


图 2 全自动 IIF 与固相法检测 ANA 敏感性和特异性森林图与 SROC 曲线

Fig. 2 Summary receiver operating characteristics (SROC) curve and coupled forest plots of coupled sensitivity and specificity for automated-IIF and solid-phase assays

（2） 全自动 IIF 与固相法检测 ANA 调整间接比较的 RDOR 结果：以手工 IIF 作为共同的参考标准，调整间接比较结果显示全自动 IIF vs 固相法的 RDOR 值为 10.74（95% *CI* 2.92-39.44）（RDOR＞1 且置信区间不包含 1）， 固相法 vs 全自动 IIF 的 RDOR 值为 0.09（95% *CI* 0.03-0.34）（RDOR＜1 且置信区间不包含 1），结果提示全自动 IIF 检测 ANA 的准确性高于固相法，差异有统计学意义。见图 3。



图 3 全自动 IIF 与固相法检测 ANA 间接比较森林图

Fig. 3 Adjustment indirect comparison forest plots of RDOR between automated-IIF and solid-phase assays

（3） 异质性检验：非阈值效应引起的异质性检验结果显示，纳入全自动 IIF 检测 ANA 的 16 项研究 DOR 对应的 Cochran-Q=915.73（*P*=0.0000），I^2=97.3% 。纳入的研究间存在高度异质性。从检测角度结合纳入研究的特征按照以下因素进行亚组分析，寻找异质性来源：全自动仪器（分为“Aklides 组”，“EUROPattern 组”，“Zenit G-sight 组”，“Helios 组”和“NOVA View 组”）；Cut-off 值（分为“Cut-off 值明确组”和“无 Cut-off 值组”）；手工 IIF 筛选滴度（分为“1:80 稀释组”，“≥1:100 稀释组”，“1:40 稀释组”）。以全自动仪器进行亚组分析，结果发现 NOVA View 组（I^2=0%，*P*=0.64）组内异质性明显降低，见图 4。以手工 IIF 筛选滴度进行亚组分析，结果发现 1:40 稀释组（I^2=49.6%，*P*=0.094）组内异质性明显低于其他各亚组，见图 5。以 Cut-off 值进行亚组分析，2 个亚组间异质性均未降低。

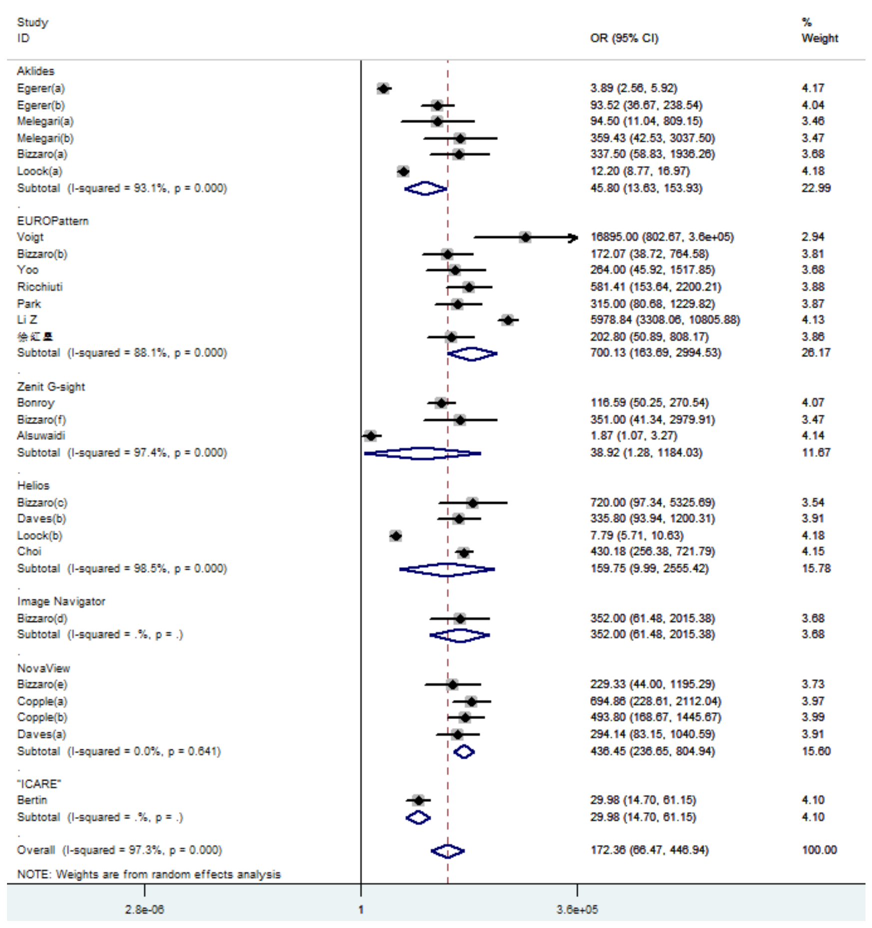


图 4 以全自动仪器为分组因素进行亚组分析的森林图

Fig. 4 Subgroup analysis forest plot of DOR by automated instrumentation for automated-IIF

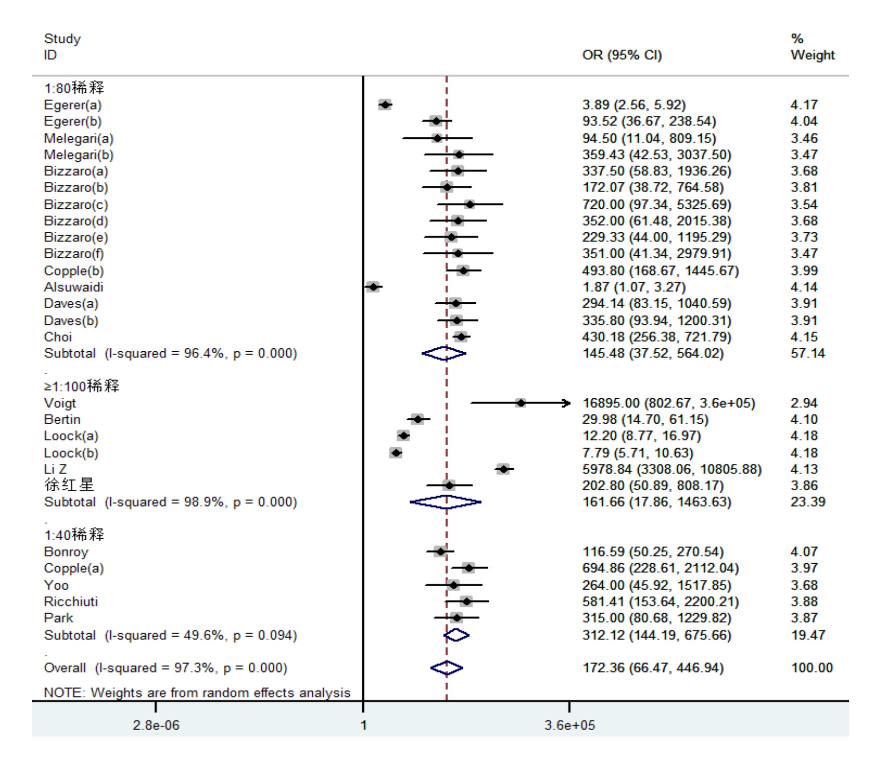


图 5 以手工 IIF 筛选滴度为分组因素进行亚组分析的森林图

Fig. 5 Subgroup analysis by working cut-off dilution of manual-IIF for automated-IIF

纳入固相法检测 ANA 的 7 项研究 DOR 对应的 Cochran-Q=113.87（P=0.0000），I^2=92.1%。纳入的研究间存在高度异质性，按照以下因素进行亚组分析，检测方法（分为“CLIA 组”和“EliA FEIA 组”）；全自动仪器（分为“DiaSorin LIAISON 组”，“Inova Diagnostics 组”，“Thermo Fisher 组”）；手工 IIF 筛选滴度（分为“1:80 稀释组”和“>1:80 稀释组”）。分组后各亚组之间异质性与总体异质性相比较均未发生明显改变。

2.4 敏感性分析和发表偏倚　分别将纳入全自动 IIF 和固相法检测 ANA 的文献中结果差异较大的文献或者样本量较大的文献剔除后再次进行 Meta 分析，2 种诊断试验结果均无明显变化，说明 2 种诊断试验研究稳定性好，结果可信。分别对纳入 2 种诊断试验中的研究采用线性回归的方法检验是否存在发表偏倚，绘制 Deek's 漏斗图，结果纳入全自动 IIF 的 16 篇文献中所包含的 26 组数据，检测结果斜率系数的 P 值=0.17，无明显发表偏倚；纳入固相法的 7 篇文献中所包含的 10 组数据，检测结果斜率系数的 P 值=0.63，无明显发表偏倚，见图 6。

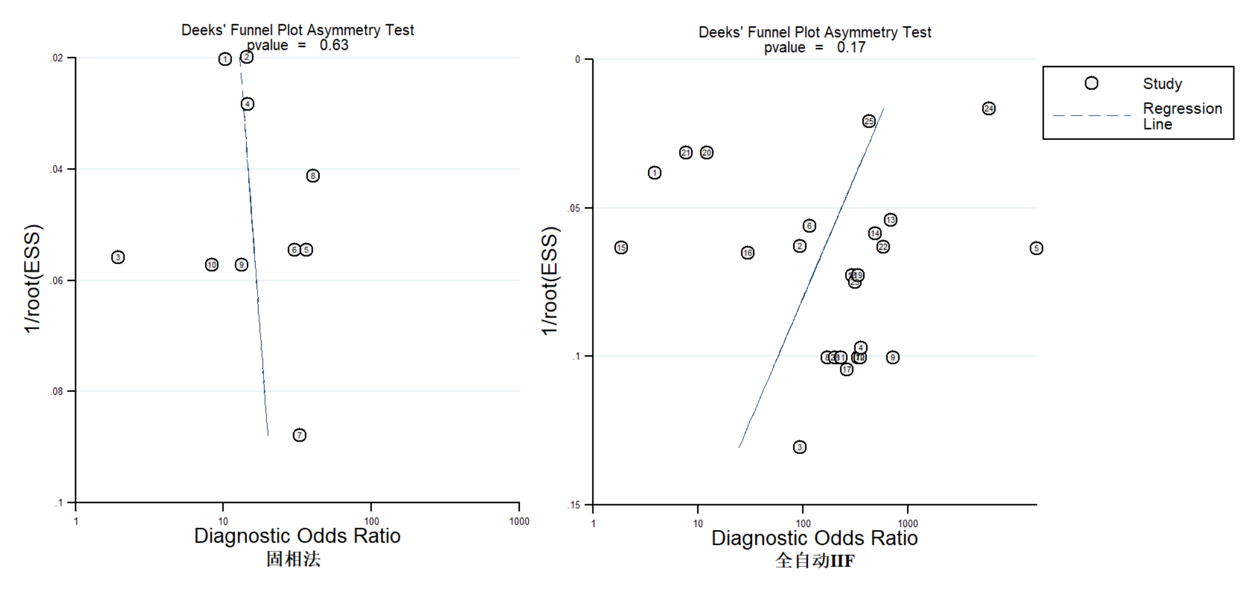


图 6　全自动 IIF 和固相法检测 ANA 的 Deek's 漏斗图

Fig. 6 Funnel chart of automated-IIF and solid-phase assays on detection of ANA

3 讨论

本文通过以手工IIF为共同参考标准，对全自动IIF与固相法检测ANA的准确性进行综合比较。首先，对纳入的23篇文献进行了普通Meta分析，以比较全自动IIF与固相法的敏感性、特异性等指标。2种检测方法的Meta分析结果显示：全自动IIF合并敏感性为0.86（95% *CI* 0.85-0.87）明显高于固相法0.43（95% *CI* 0.42-0.45），而全自动IIF合并特异性为0.90（95% *CI* 0.90-0.91）略低于固相法0.94（95% *CI* 0.93-0.94）。全自动IIF的合并PLR（10.47）和合并NLR（0.06）也优于固相法，且全自动IIF的DOR值显著高于固相法。SROC曲线结果也直观表明全自动IIF检测ANA的准确性相对较高。然而，该图并不能呈现量化的结果。因此，本研究通过以手工IIF为共同参考标准，计算全自动IIF与固相法之间的RDOR值，对其检测准确性进行间接比较。为了实现结果可视化，通过调整间接比较森林图显示RDOR值及其95% *CI*，结果显示：2种检测方法之间的差异具有统计学意义。综上所述，全自动IIF检测ANA准确性明显优于固相法。然而，纳入的各研究间存在较高的异质性。为探索异质性的来源，从检测角度结合纳入研究的特征按照不同因素进行亚组分析。本研究纳入了6种不同的全自动IIF检测系统，包括NOVA View、Aklides、Zenit G-Sight、EuroPattern、Image Navigator和Helios，这些检测系统来自不同的国家不同的制造商，因此检测系统之间的差别有可能造成异质性。由此以不同检测仪器进行了亚组分析，结果表明全自动IIF检测系统之间的差异可能是导致异质性产生的原因之一。此外，纳入的各研究选择不同的稀释度进行手工IIF，当筛选滴度为1:80、≥1:100时，研究之间的异质性

较大。然而，当筛选滴度为1:40 时各研究之间的异质性较低。这表明筛选滴度之间的差别也可导致异质性。尽管纳入研究数量较少，但本文结论提供了可能会影响总体检测准确性的因素。全自动IIF检测系统的发展是实现ANA检测标准化、自动化的重要一步[34]，并且关于ANA检测结果的判读方式也更加灵活[35]。然而，该方法也存在一些问题。例如，由于不同制造商的荧光载片之间的差异；试验过程中所用的标记抗体特性的不同[36]；全自动数字读取系统之间的差异，都可导致检测基质上荧光染色模式的显著差异[35,37]。本研究结果仅仅表明对于定性（阴性/阳性）结果的解释，全自动IIF优于固相法，而关于其对主要的ANA荧光染色模型的识别能力并未进行评估。

综上所述，在临床实验室对ANA检测需求量急剧增加的情况下，全自动IIF可作为传统手工IIF的替代检测方法。然而，本研究中存在的一些局限性会对Meta分析结果造成影响，如纳入的原始研究中包含了各种类型的病例及对照人群；进行手工IIF操作过程各研究选择了不同的筛选滴度；分析中应用的试剂和仪器也存在较大的差别。因此还需要更多的同质性较高的研究来深入分析各种相关因素（包括Cut-off值）对各诊断试验准确性的影响。

利益冲突：所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

张敏杰，杨焕丽：设计研究方案，文献检索，数据提取及统计学分析， 论文撰写；张敏杰：文献检索；杨焕丽：论文修改，实施研究过程，资料搜集整理。

参考文献

[1] Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing[J]. Arthritis and rheumatism, 2002,47(4):434-444. DOI: 10.1002/art.10561.

[2] Pisetsky DS. Antinuclear antibody testing - misunderstood or misbegotten?[J]. Nature reviews Rheumatology, 2017,13(8):495-502. DOI: 10.1038/nrrheum.2017.74.

[3] Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations[J]. Annals of the rheumatic diseases, 2010,69(8):1420-1422. DOI: 10.1136/ard.2009.127100.

[4] Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies[J]. Annals of the rheumatic diseases, 2014,73(1):17-23. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-203863.

[5] Choi HW, Kwon YJ, Park JH, et al. Evaluation of a Fully Automated Antinuclear Antibody Indirect Immunofluorescence Assay in Routine Use[J]. Frontiers in immunology, 2020,11:607541. DOI: 10.3389/fimmu.2020.607541.

[6] Orme ME, Andalucia C, Sjölander S, et al. A comparison of a fluorescence enzyme immunoassay versus indirect immunofluorescence for initial screening of connective tissue diseases: Systematic literature review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies[J]. Best practice & research Clinical rheumatology, 2018,32(4):521-534. DOI: 10.1016/j.berh.2019.03.005.

[7] Bizzaro N, Brusca I, Previtali G, et al. The association of solid-phase assays to immunofluorescence increases the diagnostic accuracy for ANA screening in patients with autoimmune rheumatic diseases[J]. Autoimmunity reviews, 2018,17(6):541-547. DOI: 10.1016/j.autrev.2017.12.007.

[8] Hayashi N, Kawamoto T, Mukai M, et al. Detection of antinuclear antibodies by use of an enzyme immunoassay with nuclear HEp-2 cell extract and recombinant antigens: comparison with immunofluorescence assay in 307 patients[J]. Clinical chemistry, 2001,47(9):1649-1659.

[9] Parker JC, Bunn CC. Sensitivity of the Phadia EliA connective tissue disease screen for less common disease-specific autoantibodies[J]. Journal of clinical pathology, 2011,64(7):631-633. DOI: 10.1136/jcp.2010.084756.

[10] Bentow C, Lakos G, Rosenblum R, et al. Clinical performance evaluation of a novel, automated chemiluminescent immunoassay, QUANTA Flash CTD Screen Plus[J]. Immunologic research, 2015,61(1-2):110-

116. DOI: 10.1007/s12026-014-8601-5.

[11] Mahler M, Meroni PL, Bossuyt X, et al. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies[J]. Journal of immunology research, 2014,2014:315179. DOI: 10.1155/2014/315179.

[12] Kern P, Kron M, Hiesche K. Measurement of antinuclear antibodies: assessment of different test systems[J]. Clinical and diagnostic laboratory immunology, 2000,7(1):72-78. DOI: 10.1128/cdli.7.1.72-78.2000.

[13] Egerer K, Roggenbuck D, Hiemann R, et al. Automated evaluation of autoantibodies on human epithelial-2 cells as an approach to standardize cell-based immunofluorescence tests[J]. Arthritis research & therapy, 2010,12(2):R40. DOI: 10.1186/ar2949.

[14] Melegari A, Bonaguri C, Russo A, et al. A comparative study on the reliability of an automated system for the evaluation of cell-based indirect immunofluorescence[J]. Autoimmunity reviews, 2012,11(10):713-716. DOI: 10.1016/j.autrev.2011.12.010.

[15] Voigt J, Krause C, Rohwäder E, et al. Automated indirect immunofluorescence evaluation of antinuclear autoantibodies on HEp-2 cells[J]. Clin Dev Immunol, 2012,2012:651058. DOI: 10.1155/2012/651058.

[16] Bonroy C, Verfaillie C, Smith V, et al. Automated indirect immunofluorescence antinuclear antibody analysis is a standardized alternative for visual microscope interpretation[J]. Clin Chem Lab Med, 2013,51(9):1771-1779. DOI: 10.1515/cclm-2013-0016.

[17] Bizzaro N, Antico A, Platzgummer S, et al. Automated antinuclear immunofluorescence antibody screening: a comparative study of six computer-aided diagnostic systems[J]. Autoimmunity reviews, 2014,13(3):292-298. DOI: 10.1016/j.autrev.2013.10.015.

[18] Copple SS, Jaskowski TD, Giles R, et al. Interpretation of ANA indirect immunofluorescence test outside the darkroom using NOVA view compared to manual microscopy[J]. Journal of immunology research, 2014,2014:149316. DOI: 10.1155/2014/149316.

[19] Alsuwaidi M, Dollinger M, Fleck M, et al.The Reliability of a Novel Automated System for ANA Immunofluorescence Analysis in Daily Clinical Practice[J]. Int J Rheumatol, 2016,2016:6019268. DOI: 10.1155/2016/6019268.

[20] Bertin D, Mouhajir Y, Bongrand P, et al. ICARE improves antinuclear antibody detection by overcoming the barriers preventing accreditation[J]. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 2016,454:57-61. DOI: 10.1016/j.cca.2015.12.034.

[21] Daves M, Blecken J, Matthias T, et al. New automated indirect immunofluorescent antinuclear antibody testing compares well with established manual immunofluorescent screening and titration for antinuclear antibody on HEp-2 cells[J]. Immunologic research, 2017,65(1):370-374. DOI: 10.1007/s12026-016-8874-y.

[22] Loock CD, Egerer K, Feist E, et al. Automated evaluation of ANA under real-life conditions. In. RMD Open. Vol 3. 2017/08/30 ed2017:e000409.

[23] Yoo IY, Oh JW, Cha HS, et al. Performance of an Automated Fluorescence Antinuclear Antibody Image Analyzer[J]. Ann Lab Med, 2017,37(3):240-247. DOI: 10.3343/alm.2017.37.3.240.

[24] Ricchiuti V, Adams J, Hardy DJ, et al. Automated Processing and Evaluation of Anti-Nuclear Antibody Indirect Immunofluorescence Testing[J]. Frontiers in immunology, 2018,9:927. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00927.

[25] Li Z, Han R, Yan Z, et al. Antinuclear antibodies detection: A comparative study between automated recognition and conventional visual interpretation[J]. Journal of clinical laboratory analysis, 2019,33(1):e22619. DOI: 10.1002/jcla.22619.

[26] Park Y, Kim SY, Kwon GC, et al. Automated Versus Conventional Microscopic Interpretation of Antinuclear Antibody Indirect Immunofluorescence Test[J]. Ann Clin Lab Sci, 2019,49(1):127-133.

[27] 徐红星，刘艺，朱琴芳，等. EUROPattern全自动免疫荧光核型和滴度判读系统检测抗核抗体的应用评价 [J].江苏大学学报(医学版)，2020,30(02):165-168+180. DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.y190016.

[28] Ghillani P, Rouquette AM, Desgruelles C, et al. Evaluation of the LIAISON ANA screen assay for antinuclear antibody testing in autoimmune diseases[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007,1109:407-413. DOI: 10.1196/annals.1398.046.

[29] Callado MR, de Alencar Barroso MN, Alves VM, et al. Antinuclear antibodies: two-step detection strategy[J]. Immunol Invest, 2014,43(1):86-95. DOI: 10.3109/08820139.2013.822391.

[30] Robier C, Amouzadeh-Ghadikolai O, Stettin M, et al. Comparison of the clinical utility of the Elia CTD Screen to indirect immunofluorescence on Hep-2 cells[J]. Clin Chem Lab Med, 2016,54(8):1365-1370. DOI: 10.1515/cclm-2015-1051.

[31] Van Hoovels L, Schouwers S, Van den Bremt S, et al. Analytical performance of the single well titer function of NOVA View®: good enough to omit ANA IIF titer analysis?[J]. Clin Chem Lab Med, 2018,56(11):258-261. DOI: 10.1515/cclm-2018-0338.

[32] González Rodríguez C, Fuentes Cantero S, Pérez Pérez A, et al. Comparison of the analytical and clinical performances of two different routine testing protocols for antinuclear antibody screening[J]. Journal of clinical laboratory analysis, 2021,35(9):e23914. DOI: 10.1002/jcla.23914.

[33] Yoon S, Moon HW, Kim H, et al. Clinical Performance of Two Automated Immunoassays, EliA CTD Screen and QUANTA Flash CTD Screen Plus, for Antinuclear Antibody Screening[J]. Ann Lab Med, 2022,42(1):63-70. DOI: 10.3343/alm.2022.42.1.63.

[34] Roggenbuck D, Hiemann R, Bogdanos D, et al. Standardization of automated interpretation of immunofluorescence tests[J]. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 2013,421:168-169. DOI: 10.1016/j.cca.2013.03.019.

[35] Cinquanta L, Bizzaro N, Pesce G. Standardization and Quality Assessment Under the Perspective of Automated Computer-Assisted HEp-2 Immunofluorescence Assay Systems[J]. Frontiers in immunology, 2021,12:638863. DOI: 10.3389/fimmu.2021.638863.

[36] Mahler M, Ngo JT, Schulte-Pelkum J, et al. Limited reliability of the indirect immunofluorescence technique for the detection of anti-Rib-P antibodies[J]. Arthritis research & therapy, 2008,10(6):R131. DOI: 10.1186/ar2548.

[37] Rigon A, Buzzulini F, Soda P, et al. Novel opportunities in automated classification of antinuclear antibodies on HEp-2 cells[J]. Autoimmunity reviews, 2011,10(10):647-652. DOI: 10.1016/j.autrev.2011.04.022.

(通信作者：杨焕丽，E-mail：158411701@qq.com)

表 1 纳入研究的基本资料

Tab. 1 Characteristics of included studies

研究	年份	研究人群特征		手工 IIF	全自动间接免疫荧光法/固相法		TP	FP	FN	TN
		n	患者类型(*n*)	滴度	滴度/Cut-off	方法(仪器)				
Egerer(a)[13]			疑似系统性风湿性疾病者	1:80	RI	Automated-IIF	252	29	444	199
Egerer(b)[13]			疑似风湿症状患者			(Aklides)	67	6	24	201
Melegari(a)[14]			随机常规样本	1:80	1:80	Automated-IIF	21	8	1	36
Melegari(b)[14]			已知自身抗体阳性样本			(Aklides)	74	7	1	34
Voigt[15]			SLE(10),SSc(10),SjS(16),PM/DM(8), ANA 阳性样本(12),DC(47),HBD(48), 未分类(200)	1:100	1:100	Automated-IIF (EUROPattern)	272	2	0	77
Bonroy[16]			SSc(141), SpA (38), OA(22), PMR(13), ANCA 相关血管炎(5), HBD(100)	1:40	PI>50 PI<8	Automated-IIF (Zenit G-Sight)	152	22	8	135
Bizzaro(a)[17]			SLE(21), PMR(1), SSc(17), HCV(3), SjS(8), EBV 感染(1),多发性肌炎/皮肌炎 (6), NS(1), UCTD(12), 鼻病 (1), MCTD(3), 慢性荨麻疹(1), PBC(11), 膀胱癌(1), 纤维肌痛(1),A-NHBD(40)	1:80	35 AU	Automated-IIF (Aklides)	90	4	2	30
Bizzaro(b)[17]					80 AU	Automated-IIF (EUROPattern)	89	5	3	29
Bizzaro(c)[17]					不详	Automated-IIF (Helios)	90	2	2	32
Bizzaro(d)[17]					49	Automated-IIF (Image Navigator)	88	2	4	32
Bizzaro(e)[17]					66 AU	Automated-IIF (Nova View)	86	2	6	32
Bizzaro(f)[17]					15 AU	Automated-IIF (Zenit G-Sight)	91	7	1	27
Copple(a)[18]			SLE(50),RA(44),SSc(35),SjS(19),PM(10),HBD(99),随机对照(112)	1:40	100 LIU	Automated-IIF (Nova View)	128	6	7	228
Copple(b)[18]				1:80		Automated-IIF (Nova View)	92	7	7	263
Alsuwaidi[19]			不详	1:80	FI<15 FI>25	Automated-IIF (Zenit G-Sight)	67	127	22	78
Bertin[20]			不详	1:160	FI=1.8	Automated-IIF (“ICARE”)	97	15	22	102
Daves(a)[21]	2017	198	ANA 阳性的 AID(120) ANA 阴性的非 AID(78)	1:80	1:80	Automated-IIF (Nova View)	116	7	4	71
Daves(b)[21]					1:80	Automated-IIF (Helios)	115	5	5	73

续表 1

Tab. 1 (continued)

研究	研究人群特征			手工 IIF	全自动间接免疫荧光法/固相法		TP	FP	FN	TN
			患者类型(*n*)	滴度	滴度/Cut-off	方法(仪器)				
Loock(a)[22]	2017	1008	疑似自身免疫性风湿病者	1:160	LIU≥100	Automated-IIF (Aklides)	476	193	57	282
Loock(b)[22]					1:160	Automated-IIF (Helios)	464	220	69	255
Yoo[23]			SLE (n=10),SjS (n=5),SSc (n=1),OSAD (14),未分类(21)	1:40	1:40	Automated-IIF (EUROPattern)	66	2	4	32
Ricchiuti[24]			不详	不详	1:80	Automated-IIF (EUROPattern)	167	3	9	94
Li Z[25]			不详	>1:100	>1:100	Automated-IIF (EUROPattern)	1603	32	17	2029
Park[26]			不详	1:40	1:40	Automated-IIF (EUROPattern)	126	8	3	60
Choi[5]			风湿病科(1471),内科(836),皮肤科(380),神经内科(215),儿科(187),其他(187)	1:80	FSI=70	Automated-IIF (Helios)	548	16	200	2512
徐红星[27]			ANA 阳性的 AID(177) 健康对照(25)	1:100	1:100	Automated-IIF (EUROPattern)	169	5	4	24
Ghillani[28]			SLE(187),SjS(35),UCTD(13), 肌炎(10),Sharp 病 (6), SSc(21), CREST 综合征 (19), APS(10),PBC(10),RA(16), 未分类(273)	≥1:160	>1.5	CLIA (DiaSorin LIAISON)	268	23	69	240
Callado[29]			不详	1:80	≥1.5	CLIA (DiaSorin LIAISON)	26	9	14	160
Robier[30]			不详	1:160	1 U/ml	EliA FEIA (Thermo Fisher)	128	37	288	1216
Bizzaro(a)[7]			SLE, SjS, SS, MCTD	1:80	1 U/ml	EliA FEIA (Thermo Fisher)	332	59	743	1361
Bizzaro(b)[7]				1:80	20 RCU	CLIA (Inova Diagnostics)	457	47	825	1219

续表 1

Tab. 1 (continued)

研究	年份	研究人群特征 *n*	研究人群特征 患者类型(*n*)	手工 IIF 滴度	全自动间接免疫荧光法/固相法 滴度/Cut-off	全自动间接免疫荧光法/固相法 方法(仪器)	TP	FP	FN	TN
Van Hoovels L(a)[31]	2018	322	SLE(44), SSc(4),SjS(16), MCTD(4), PM/DM(4), 缓解期 AARD(9), 未确诊 AARD(9), RA(12), JIA (10), 其他(210)	1:80	不详	EliA FEIA (Thermo Fisher)	89	31	36	166
Van Hoovels L(b)[31]					不详	CLIA (Inova Diagnostics)	86	41	39	156
González[32]	2021	323	N-AID(147), 恶性肿瘤(12), OSAID(31), SARD(133)	≥1:80	1 U/ml	EliA FEIA (Thermo Fisher)	79	44	96	104
Yoon(a)[33]	2022	406	SLE(72),SSc(11),MCTD(6), SjS(19), PM/DM(1), CTD(14), RA(14), NRD(63), 未分类(206)	≥1:80	1 U/ml	EliA FEIA (Thermo Fisher)	87	20	32	267
Yoon(b)[33]					≥20 CU	CLIA (Inova Diagnostics)	92	29	27	258

注:Antinuclear antibodies (ANA) :抗核抗体; antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA):抗中性粒细胞胞浆抗体; Automated indirect immunofluorescence (IIF):全自动间接免疫荧光法; enzyme-linked immunosorbent assay (EliA):酶联免疫法; fluorescence enzyme immunoassay (FEIA):荧光酶免疫分析技术; chemiluminescent immunoassay (CLIA):化学发光免疫分析; probability index (PI):预测指数; chemiluminescent units (CU):发光单位;fluorescence index (FI) :荧光指数; "ICARE" (Immunofluorescence for Computed Antinuclear antibody Rational Evaluation):应用计算合理评估抗核抗体免疫荧光法; Light Intensity Units (LIU) :光强单位; reactivity index (RI):反应指数; fluorescence signal intensity (FSI):荧光信号强度; autoimmune disease(AID):自身免疫性疾病; systemic lupus erythematosus (SLE):系统性红斑狼疮; Sjögren's syndrome (SjS):干燥综合征; systemic sclerosis (SSc):系统性硬化症; organ specific autoimmune diseases(OSAID):器官特异性自身免疫性疾病; ANA-negative healthy blood donors(A-NHBD):ANA 阴性的健康献血员;Viral hepatitis (HCV):病毒性肝炎; Nephrotic syndrome(NS):肾病综合征; connective tissue disease (CTD):结缔组织病; Undifferentiated connective tissue disease (UCTD):未分化结缔组织病; mixed connective tissue disease (MCTD):混合性结缔组织病; Primary biliary cirrhosis(PBC): 原发性胆汁性胆管炎; spondyloarthropathy(SpA):脊柱关节病; osteoarthritis(OA):骨关节炎; polymyalgia rheumatica(PMR):风湿性多肌痛; healthy blood donors(HBD):健康献血员; rheumatoid arthritis (RA):类风湿性关节炎; polymyositis (PM):多发性肌炎; polymyositis/dermatomyositis (PM/DM):多发性肌炎/皮肌炎; disease controls(DC): 疾病对照; healthy controls (HC):健康对照; Systemic autoimmune rheumatic diseases (SARD): 系统性自身免疫性风湿病; Non-autoimmune diseases(N-AID): 非自身免疫性疾病; antinuclear antibody-associated rheumatic disease (AARD):抗核抗体相关风湿性疾病;Non-rheumatic disease (NRD):非风湿性疾病; antiphospholipid syndrome(APS):抗磷脂综合征; Juvenile idiopathic arthritis (JIA): 幼年特发性关节炎。